

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 24520081153433

UDC\_\_\_\_\_

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

脑膜炎患者IL-27、IFN- $\gamma$ 及其mRNA表达的  
研究

Significance of detecting IL-27, IFN- $\gamma$  and their mRNA  
expression in patients with meningitis

彭锋

指导教师姓名: 郑维红 教授

专 业 名 称: 内科学

论文提交日期: 2011 年 5 月

论文答辩日期: 2011 年 5 月

学位授予日期: 2011 年 5 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2011 年 5 月

脑膜炎患者IL-27、IFN- $\gamma$ 及其SNA表达的研究

彭锋

指导教师

郑维红

教授

厦门大学

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月        日

## 摘要

### 目的:

通过检测脑膜炎患者 CSF、血清 IL-27、IFN- $\gamma$  及血液 IL-27EBI3、P28、IFN- $\gamma$  mRNA, 探讨它们在脑膜炎(结核性、细菌性、病毒性)患者 CSF、血液中水平及临床意义。

### 方法:

共收集 80 例可疑脑膜炎患者入院时 CSF 和血液标本, 80 例患者依据 CSF 改变及临床特征分为 4 组: 结核性脑膜炎 (n=14); 细菌性脑膜炎 (n=16); 病毒性脑膜炎(n=30); 对照组 (n=20)。通过 ELISA 检测所有患者 CSF 和血清 IL-27、IFN- $\gamma$  水平, 通过 semi RT-PCR 检测所有患者血液 IL-27EBI3、p28 及 IFN- $\gamma$  mRNA 水平。

### 结果

结核性脑膜炎、细菌性脑膜炎、病毒性脑膜炎患者 CSF IL-27 水平明显高于对照组 (均  $P<0.01$ ), 且结核性、细菌性脑膜炎患者 CSF IL-27 水平明显高于病毒性脑膜炎患者 ( $P<0.01$ ); 血清 IL-27 水平提示: 结核性脑膜炎、细菌性脑膜炎、病毒性脑膜炎患者血清 IL-27 水平明显高于对照组 (均  $P<0.01$ ), 但结核性、细菌性、病毒性脑膜炎患者之间比较差异均无统计学意义。

结核性脑膜炎患者和病毒性脑膜炎患者 CSF IFN- $\gamma$  水平明显高于细菌性脑膜炎及对照组患者 (均  $P<0.01$ ), 且细菌性脑膜炎患者 CSF IFN- $\gamma$  与对照组比较差异无统计学意义; 结核性脑膜炎、病毒性脑膜炎患者血清 IFN- $\gamma$  水平明显高于细菌性脑膜炎及对照组患者 (均  $p<0.01$ )。

血液 mRNA 检测提示: 结核性脑膜炎、细菌性脑膜炎、病毒性脑膜炎患者血液 IL-27EBI3、P28mRNA 水平均高于对照组, 但三组脑膜炎之间差异无统计学意义; 结核性脑膜炎和病毒性脑膜炎患者血液 IFN- $\gamma$  mRNA 水平明显高于细菌性脑膜炎和对照组 (均  $P<0.01$ ), 而结核性脑膜炎与病毒性脑膜炎血清 IFN- $\gamma$  mRNA

水平差异无统计学意义

**结论:**

检测 CSF IL-27、IFN- $\gamma$  水平可能有助于鉴别细菌性脑膜与结核性脑膜炎和（或）病毒性脑膜炎；血清 IL-27、IFN- $\gamma$  及血液 IL-27、IFN- $\gamma$  mRNA 对三组脑膜炎无鉴别诊断价值。

**关键词:** 脑膜炎；白细胞介素-27；干扰素- $\gamma$

## Abstract

### Objective

To investigate IL-27 or IFN- $\gamma$  level of Cerebrospinal fluid(CSF) and serum and their clinical significance in patients with meningitis by detecting CSF and serum IL-27 or IFN- $\gamma$  levels, We also detected IL-27 or IFN- $\gamma$  mRNA expression in patients with meningitis.

### Methods

We measured CSF and serum levels of IL-27 and IFN- $\gamma$  in 80 patients suspected with meningitis by ELISA, we also detected IL-27 or IFN- $\gamma$  mRNA expression by semi RT-PCR, All of patients were divided into four groups: tuberculous meningitis (n=14), bacterial meningitis (n=16), aseptic meningitis (n=30) and non-meningitis (n=20).

### Results

CSF levels of IL-27 were significantly elevated in patients with meningitis compared to patients with non-meningitis, and CSF levels of IL-27 were significantly higher in patients with bacterial meningitis or tuberculous meningitis than patients with aseptic meningitis. Serum levels of IL-27 were significantly higher in patents with meningitis than patients with non-meningitis.

CSF levels of IFN- $\gamma$  were significantly higher in patents with tuberculous meningitis or aseptic meningitis than patients with non-meningitis or bacterial meningitis. Similarity, serum concentrations of IFN- $\gamma$  also were significantly higher in patents with tuberculous meningitis or aseptic meningitis than patients with non-meningitis or bacterial meningitis.

For IL-27 EBI3、P28 mRNA expression, we found that there were significantly higher in patents with meningitis than patients with non-meningitis. there were

significantly higher in patents with tuberculous meningitis or aseptic meningitis than patients with non-meningitis or bacterial meningitis about IFN- $\gamma$  mRNA expression.

### **Conclusion**

Our study show that detecting of CSF IL-27, IFN- $\gamma$  levels may contribute to differential bacterial meningitis from tuberculous meningitis (or aseptic meningitis). Serum IL-27, IFN- $\gamma$  levels and blood IL-27, IFN- $\gamma$  mRNA expression can not be used for differential diagnosis of meningitis.

**Key word:** Meningitis; IL-27; IFN- $\gamma$



## 英文缩略词表

### Abbreviations and Acronyms

缩略词	英文全称	中文全称
CSF	Cerebrospinal fluid	脑脊液
IL-27	Interleukin-27	白细胞介素-27
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$	干扰素- $\gamma$
semi RT-PCR	semi-quantitative reverse transcription and polymerase Chain reaction	半定量反转录—聚合酶 链反应
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附试验
bp	base pair	碱基对
cDNA	complementary DNA	互补 DNA
dNTP	deoxyribonucleotide	脱氧核糖核酸
PCR	polymerase Chain reaction	聚合酶链反应
EDTA	ethylene Diamine Tetracetic Acid	乙二胺四乙酸
min	minute	分钟
PBS	phosphate buffer saline	磷酸盐缓冲液
rpm	rote per minute	每分钟转速
s	second	秒
DEPC	Diethylpyrocarbonate	焦碳酸二乙酯
mRNA	Messenger RNA	信使核糖核酸
Oligo(dT)	Oligo deoxythymidylic acid	寡脱氧胸苷酸
TAE	Tris-acetic acid-EDTA buffer	Tris-乙酸-EDTA 缓冲液
Taq	Thermus-aquaticus DNA polymerase	耐热 DNA 聚合酶
Tris	Tris(hydroxymethyl) aminomethane	三羟甲基氨基甲烷
ddH <sub>2</sub> O	doble distilled water	双蒸水
d	day	天

w

week

周

厦门大学博硕士论文摘要库

# 目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
英文缩略词表.....	V
前言.....	01
1. 实验资料.....	03
1.1 研究对象.....	03
1.2 诊断标准.....	03
1.3 主要试剂.....	04
1.4 主要仪器和设备.....	04
1.5 主要试剂的配制.....	05
2. 实验方法.....	07
2.1 CSF、血清 IL-27、IFN- $\gamma$ 水平检测.....	07
2.1.1 CSF、血液标本处理.....	07
2.1.2 CSF、血清 IL-27 检测.....	07
2.1.3 CSF、血清 IFN- $\gamma$ 检测.....	08
2.2 血液 IL-27、IFN- $\gamma$ 基因检测.....	09
2.2.1 白细胞提取.....	09
2.2.2 白细胞 RNA 提取.....	10
2.2.3 RNA 样本的纯度测定.....	10
2.2.4 RNA 逆转录合成 cDNA (RT 反应).....	10
2.2.5 PCR 反应.....	11
2.2.6 目的基因灰度值/ $\beta$ -actin 灰度值计算.....	14
2.3 统计学处理方法.....	14
3. 实验结果.....	15
3.1 各组患者一般情况及脑脊液特征.....	15

3.2 各组患者 CSF IL-27 水平比较.....	15
3.3 各组患者 CSF IFN- $\gamma$ 水平比较.....	16
3.4 各组患者血清 IL-27 水平比较.....	17
3.5 各组患者血清 IFN- $\gamma$ 水平比较.....	17
3.6 各组患者 CSF 与血清 IL-27(或 IFN- $\gamma$ )水平比较.....	18
3.7 脑膜炎患者 CSF 参数与 IL-27(或 IFN- $\gamma$ )关联性分析.....	19
3.8 各组患者血清 IL-27 和(或)IFN- $\gamma$ 基因表达水平比较.....	20
4. 讨论.....	21
4.1 IL-27 与脑膜炎.....	21
4.2 IFN- $\gamma$ 与脑膜炎.....	21
4.3 CSF IL-27、IFN- $\gamma$ 水平在脑膜炎患者中的鉴别诊断价值.....	22
5. 结论.....	23
6 本研究的创新与不足.....	23
7. 参考文献.....	24
综述.....	28
附录一.....	41
附录二.....	43
致谢.....	44

## Contents

<b>ABSTRACT IN CHINESE</b>	<b>I</b>
<b>ABSTRACT IN CHINESEV</b>	<b>III</b>
<b>ABBREVIATIONS AND ACRONYMS</b>	<b>V</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>01</b>
<b>MATERIALS AND METHODS</b>	<b>03</b>
<b>1 EXPERIMENTAL MATERIALS</b>	<b>03</b>
1.1 OBJECT OF STUDY	03
1.2 MAJOR REAGENT	03
1.3 MAJOR APPARATUS AND EQUIPMENT	04
1.4 PREPARATION OF REAGENTS	04
1.5 PREPARPATION OF REAGENTS	05
<b>2. EXPERIMENTAL METHODS</b>	<b>07</b>
2.1 Detection of CSF and serum IL-27 or IFN- $\gamma$ levels	07
2.1.1 Handling CSF and blood samples	07
2.1.2 Detection of CSF and serum IL-27 levels	07
2.1.3 Detection of CSF and serum IFN- $\gamma$ levels	08
2.2 Detection of blood IL-27or IFN- $\gamma$ gene levels	09
2.2.1 Extract of white blood cells	09
2.2.2 Extract of RNA	10
2.2.3 Detection of the purity of the RNA sample	10
2.2.4 RNA Reverse transcription	10
2.2.5 PCR	11
2.2.6 Gray value of target gene / $\beta$ -actin gray value	14
2.3 Statistical methods	14
<b>RESULTS</b>	<b>15</b>
3.1 General Situation of each group and CSF features of meningitis	15
3.2 Comparison of CSF IL-27 levels in each group	15
3.3 Comparison of CSF IFN- $\gamma$ levels in each group	16

3.4 Comparison of CSF IL-27 levels in each group.....	17
3.5 Comparison of serum IFN- $\gamma$ levels in each group.....	17
3.6 CSF and serum IL-27 (or IFN- $\gamma$ ) levels were compared in each group•	18
3.7 Analysis of CSF parameters associated with IL-27 (or IFN- $\gamma$ ) in patients with meningitis.....	19
3.8 Comparison of blood IL-27mRNA(or IFN- $\gamma$ mRNA) levels in each group.....	20
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>21</b>
4.1 IL-27 and meningitis.....	21
4.2 IFN- $\gamma$ and meningitis.....	21
4.3 CSF IL-27 and IFN- $\gamma$ level Value of differential diagnosis of meningitis.....	22
<b>CONCULSION.....</b>	<b>23</b>
<b>INNOVATION and DEFICIENCY.....</b>	<b>23</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>24</b>
<b>REVIEW.....</b>	<b>28</b>
<b>APPENDIX I .....</b>	<b>41</b>
<b>APPENDIX II .....</b>	<b>43</b>
<b>ACKNOWLEDGEMENTS.....</b>	<b>44</b>

## 前 言

脑膜炎是神经系统常见疾病之一，是由于各种病原微生物侵入中枢神经系统（central nervous system, CNS）引起脑膜的急性或慢性炎症性（或非炎症性）疾病，这些病原微生物包括结核、细菌、病毒、真菌等。脑膜炎目前仍是严重威胁人类健康的疾病之一，其病因诊断一直困扰着临床工作，早期缺乏典型的临床特征和有效的检测手段，结核性、细菌性、病毒性脑膜炎早期不易鉴别，但各种脑膜炎治疗方法又存在很大差异，结核性脑膜炎主要治疗手段为抗结核治疗，而细菌性脑膜炎以抗生素治疗为主，病毒性脑膜炎则为自限性，因抗结核药物具有严重的副作用，非结核性脑膜炎患者长期予抗结核治疗可能带来不必要的严重药物副作用风险。不仅如此，脑膜炎延误诊治也可能会导致严重后果，尤其是结核性脑膜炎，多项研究指出：给予正规抗结核性治疗，结核性脑膜炎患者死亡率为 20~50%<sup>[1-7]</sup>，而延迟诊断和治疗死亡率将更高，Girgis, N. I. 等<sup>[8]</sup>通过对 1430 名结核性脑膜炎患者进行研究，依据临床表现患者分为 3 期，I 期：患者意识完全清楚；II 期：患者嗜睡或有神经功能缺损；III 期：患者昏迷或仅对强烈刺激有反应，研究发现：I 期患者死亡率为 18%，II 期患者死亡率为 34%，而 III 期患者死亡率达 72%，治疗前症状持续 4 周的患者，其死亡率高达 80%。因此，早期脑膜炎患者病因诊断尤为重要。目前，国内外对结核性脑膜炎的诊断的辅助检查如脑脊液的结核杆菌培养耗时长、阳性率低，且操作复杂；早期脑脊液（CSF）常规、生化及蛋白诊断无特异性；结核杆菌抗体和抗原阳性率低；PCR 技术的应用虽可以帮助临床作出快速诊断，但易出现假阳性，都不具有结核性脑膜炎的早期诊断特异性，易导致延误诊断与治疗。

病原微生物入侵 CNS 后，CNS 细胞（如内皮细胞、小胶质细胞、星型胶质细胞）分泌大量促炎细胞因子引起炎症反应，这些细胞因子包括肿瘤坏死因子- $\alpha$ （Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ）、白细胞介素-1 (Interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-8 (Interleukin-8, IL-8)和（或）

干扰素- $\gamma$  (Interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )<sup>[8-13]</sup>。这些细胞因子在炎症反应中发挥了重要作用,可能与发病和死亡密切相关<sup>[8, 10, 14, 15]</sup>。长期以来,细胞因子在脑膜炎中的作用是研究热点之一。不仅如此,研究表明:CSF 中某些细胞因子可能对脑膜炎患者鉴别诊断有重要价值,Tang RB 等<sup>[11]</sup>报道指出:检查 CSF 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平对于鉴别细菌性脑膜炎与病毒性脑膜炎敏感性分别达 78%、74%,特异性分别达 96%和 81%;Hsieh C-C 等<sup>[12]</sup>报道指出:IL-6 和 IL-12 对细菌性脑膜炎与病毒性脑膜炎也有良好的鉴别诊断价值;国内学者巫顺秀等<sup>[16]</sup>报道指出:检测脑膜炎患者脑脊液 IFN- $\gamma$  水平对于鉴别结核性脑膜炎与病毒性脑膜炎敏感性达 100%,特异性达 97.8%。

IL-27 是 2002 年发现的 IL-6/IL-12 家族性细胞因子,IL-27 是由活化的抗原呈递细胞分泌,能早期启动初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞活化与增殖,协同 IL-12 诱导初始 CD4<sup>+</sup>T 分化为 Th1 细胞并分泌 IFN- $\gamma$  <sup>[17-20]</sup>,促进炎症反应;IL-27 还具有抑制炎症反应作用,即抑制完全活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌 IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-5 多种细胞因子<sup>[18-21]</sup>;IL-27 还是一种在免疫反应中很早阶段就起作用的细胞因子<sup>[22]</sup>。由于 IL-27 具有上述独特的生物学作用,其在感染性疾病中的作用近来备受关注,Holscher, C 等<sup>[23]</sup>通过气溶胶方式使野生型 C57BL/6 小鼠感染结核分枝杆菌 21d 即可测到 IL-27 两个亚基 IL-27p28、EBI3 及受体 WSX-1 水平上调;Zhu C 等<sup>[24]</sup>等研究发现乙型肝炎病毒感染患者血清 IL-27 水平明显比未感染者高,肝硬化与肝癌患者比急性肝炎与慢性肝炎患者血清 IL-27 水平高,且 e 抗原阳性患者血清 IL-27 水平比阴性患者高;对于细菌感染,Wirtz 等<sup>[25]</sup>研究表明 IL-27 参与小鼠腹膜炎免疫反应。而 IFN- $\gamma$  参与结核性脑膜炎或病毒性脑膜炎免疫反应早已得到证实<sup>[8, 13]</sup>。因此,我们通过检测脑膜炎患者 CSF、血清 IL-27、IFN- $\gamma$  及血液 IL-27EBI3/P28、IFN- $\gamma$  mRNA,探讨它们在脑膜炎(结核性、细菌性、病毒性)患者 CSF、血液中水平及临床意义,以期对临床工作有所帮助。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库